



A Sysmex Group Company



Kullanım Talimatları (IFU)

REF: CE-LPH 038-S / CE-LPH 038

BCR/ABL (ABL1) Plus Translocation, Dual Fusion Probe



YALNIZCA PROFESYONEL KULLANIM İÇİNDİR



Daha fazla bilgi ve diğer diller şurada mevcuttur: ogt.com/IFU

Kullanım Amacı

CytoCell® BCR/ABL (ABL1) Plus Translocation, Dual Fusion Probe, doğrulanmış veya şüpheli kronik miyeloid lösemi (KML), akut miyeloid lösemi (AML) veya akut lenfoblastik lösemili (ALL) hastalardan alınan, Carnoy çözeltisinde (3:1 metanol/asetik asit) sabitlenmiş ve hematolojik olarak türetilmiş hücre süspansiyonlarında kromozom 9 üzerinde 9q34.1'de ASS1 bölgesinin konkomitant silinmeleri ile veya bunlar olmadan, kromozom 9 üzerindeki 9q34.1 bölgesi ve kromozom 22 üzerindeki 22q11.2 bölgesi arasındaki kromozomal yeniden düzenlemeleri tespit etmek için kullanılan, kalitatif, otomatik olmayan bir floresans yerinde hibridizasyon (FISH) testidir.

Kullanım Endikasyonları

Bu cihaz, onaylanmış tanılal ve klinik bakım yollarında, BCR::ABL1 translokasyon durumu ve ASS1 silinme durumu bilgisinin klinik yönetim için önemli olacağı, diğer klinik ve histopatolojik testlere ek olarak tasarlanmıştır.

Sınırlamalar

Bu cihaz, bu prob setindeki açık mavi klonlarla kaplanmış bölgedeki silinmeler veya kırmızı ve yeşil klonlarla kaplanmış bölgedeki kırılma noktalarına sahip yeniden düzenlemeleri tespit etmek için tasarlanmıştır, bu prob seti ABL1, BCR ve ASS1 bölgelerini içerir. Bu bölge dışındaki kırılma noktaları, tümüyle bu bölge dahilinde olan varyant yeniden düzenlemeleri veya bu bölgedeki kısmi kayıplar, bu cihaz ile tespit edilemez. Bu cihaz şunlar için kullanılmaz: bağımsız tanılama, birlikte tanılama, prenatal test, popülasyon bazlı tarama, hasta başında test ya da kendi kendine test.

Bu cihaz, kullanım amacıyla belirtilenler dışındaki numune tipleri, hastalık tipleri ya da amaçlar için doğrulanmamıştır.

Tanılama amaçlı diğer laboratuvar testlerine yardımcı olması için kullanılmalıdır. Yalnızca FISH sonuçlarına dayanarak tedavi başlatılmamalıdır.

FISH sonuçlarının raporlanması ve yorumlanması, uygun vasıflara sahip personel tarafından yapılmalı, profesyonel uygulama standartlarıyla tutarlı olmalıdır ve ilgili diğer test sonuçları, klinik ve tanılama bilgilerini de göz önünde bulundurulmalıdır. Bu cihaz yalnızca laboratuvarında profesyonel kullanım içindir.

Protokole bağlı kalınmaması performansı etkileyebilir ve yanlış pozitif/negatif sonuçlara neden olabilir.

Test Prensipleri

Floresans yerinde hibridizasyonu (FISH), DNA dizilimlerinin metafaz kromozomlar üzerinde ya da sabit sitogenetik numunelerden alınan interfaz çekirdeklerde tespit edilmesine yardımcı olan bir tekniktir. Bu teknik, tüm kromozomları ya da teki özgün dizilimleri melezleştiren DNA problemleri kullanır ve G bantlı sitogenetik analiz için güçlü bir yardımcıdır. Bu teknik, prenatal, hematolojik ve solid tümör kromozomal analizlerde temel bir araştırma aracı olarak kullanılabilir. Fiksasyon ve denatürasyonun ardından hedef DNA, komplementer bir dizilime sahip, benzer bir denatüre, floresan etiketli DNA probuna tavlınmaya hazır hale gelir. Hibridizasyonu takiben, bağırsız ve belirsiz bağlı DNA probu kaldırılır ve DNA vizüalizasyon için karşıt boyayla boyanır. Floresan mikroskopisi böylece hedef materyal üzerindeki melezleştirilmiş probun vizüalizasyonunu yapabilir.

Prob Bilgisi

BCR (RhoGEF ve GTPaz'ın BCR aktivatörü) geni 22q11.2'de, ABL1 (ABL proto-onkogen 1, reseptör olmayan tirozin kinaz) geni 9q34.1'de ve ASS1 (argininosüksinat sentaz 1) geni ise 9q34.1'de bulunur. BCR ve ABL1 arasındaki translokasyon, BCR::ABL1 füzyon genine yol açar. Bir BCR::ABL1 füzyonunun olması, çeşitli hematolojik hastalıklarda önemli teşhis ve prognoz etkilerine sahiptir.

T(9;22)(q34.1;q11.2) translokasyonu, kronik miyeloid löseminin (KML) ayırt edici özelliğidir ve vakaların yaklaşık %90-95'inde bulunur¹. Kalan vakalar değişken bir translokasyona sahiptir veya rutin sitogenetik analizle tanımlanamayan 9q34.1 ile 22q11.2 arasında kriptik bir translokasyona sahiptir¹. BCR::ABL1 füzyonları, yetişkin akut lenfoblastik löseminin (ALL) %25'inde ve çocukluk çağı ALL'nin %2-4'ünde bulunabilir¹. Bu yeniden düzenleme nadir görülen akut miyeloid lösemi (AML) vakalarında da görülür².

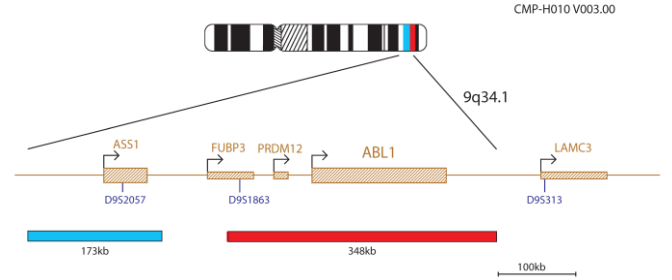
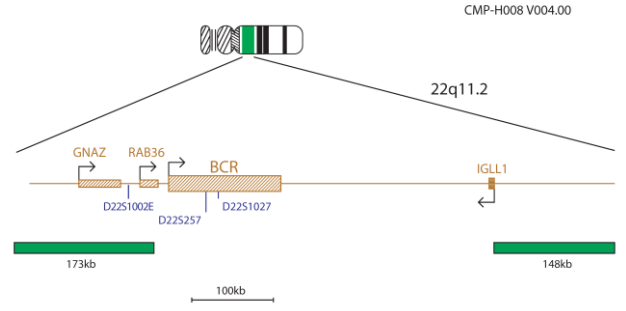
Kromozom 9 ve 22 arasındaki translokasyona, ASS1 (argininosüksinat sentaz 1) bölgesi dahil olmak üzere türev kromozomu 9 üzerindeki proksimal dizilimlerin kaybı eşlik edebilir³.

Prob Spesifikasyonu

ASS1, 9q34.1, Açık mavi

ABL1, 9q34.1, Kırmızı

BCR, 22q11.2, Yeşil



Yeşil prob karışımı, GNAZ ve RAB36 genlerini kapsayan BCR genine sentromerik olan bir 173 kb prob içerir. İkinci bir yeşil prob, IGLL1 geninin bir kısmını kapsayan BCR genine telomerik olan bir 148 kb bölgeyi kapsar.

Kırmızı ve açık mavi prob karışımı, ABL1 genini kapsayan bir 348 kb kırmızı prob ve ASS1 genini kapsayan bir 173 kb açık mavi prob içerir.

Tedarik Edilen Materyaller

Prob: Viyal başına 50 µl (5 test) ya da viyal başına 100 µl (10 test).

Problar, hibridizasyon çözeltisine (<%65 formamit; <20 mg dekstran sülfat; < %10 20 kat salin-sodyum sitrat (SSC)) karıştırılmış olarak tedarik edilir ve kullanıma hazırdır.

Karşıt boya: Viyal başına 150 µl (15 test).

Karşıt boya, DAPI Antifade ES'dir (gliserol bazlı gömme ortamı içinde 0,125 µg/ml DAPI (4,6-diamidino-2-fenilindol)).

Uyarılar ve Tedbirler

1. Yalnızca *in vitro* tanılama amaçlıdır. Yalnızca laboratuvarında profesyonel kullanım içindir.
2. Prob karışımları bir teratojen olan formamit içermektedir; buharı solumayın ya da cildinize temas ettirmeyin. Kullanırken özen gösterin; eldiven ve laboratuvar önlüğü giyin.
3. DAPI'yı kullanırken özen gösterin; eldiven ve laboratuvar önlüğü giyin.
4. Viyaller zarar görmüş ya da viyal içerikleri bir şekilde bozulmuşsa bunları kullanmayın.
5. Bu ürünü güvenli şekilde imha etmenin yolunu bulmak için Güvenlik Veri Sayfasındaki önerilerle birlikte bulunduğunuz konumdaki yerel imha yönetmeliklerini izleyin. Bu zarar görmüş test kiti içerikleri için de geçerlidir.
6. Kullanılmış tüm reaktifler ve diğer tüm kontamine ve tek kullanımlık materyalleri, enfeksiyöz ya da enfeksiyon potansiyeli olan atık prosedürlerini izleyerek imha edin. Katı ve sıvı atıkları, yapısı ve tehlike derecesine göre kullanmak ve bunları geçerli yönetmelikler uyarınca işlemek ve imha etmek (ya da işletmek ve imha ettirmek) laboratuvarın sorumluluğudur.
7. Operatörler, kırmızı, mavi ve yeşil renkleri ayırt edebiliyor olmalıdır.

- Belirtilen protokol ve reaktiflere bağlı kalınmaması, performansı etkileyebilir ve yanlış pozitif/negatif sonuçlara neden olabilir.
- Bir prob diğer problemlerle seyreltilmemelidir ya da karıştırılmamalıdır.
- Protokolün ön denatürasyon aşaması sırasında 10 µl prob kullanılmaması, performansı etkileyebilir ve yanlış pozitif/negatif sonuçlara neden olabilir.
- Tüm ürünler kullanılmadan önce doğrulanmalıdır.
- İç kontroller, numuneleri test ederken etkilenmeyen hücre popülasyonları kullanılarak yapılmalıdır.

Sıcaklık Açıklamaları

- 20 °C/Donmuş/Dondurucuda: -25 °C ila -15 °C
- 37 °C: +37 °C ± 1 °C
- 72 °C: +72 °C ± 1 °C
- 75 °C: +75 °C ± 1 °C
- Oda Sıcaklığı (RT): +15 °C ila +25 °C

Muhafaza ve Kullanım

Bu kit, etiketinde belirtilen son kullanma tarihine kadar -25 °C ile -15 °C arasında bir dondurucuda muhafaza edilmelidir. Prob ve karşıt boya vialleri karanlık bir ortamda muhafaza edilmelidir.



FISH probu, DAPI Antifade ES karşıt boyası ve Hibridizasyon Çözeltilisi, normal kullanım sırasında uygulanan dondurma-çözme döngülerinde stabil kalır (burada bir döngü vialin dondurucudan çıkarılması ve dondurucuya yerleştirilmesinden oluşur) - 50 µl (5 test) vial FISH probu için 5 döngü, 100 µl (10 test) vial FISH probu için 10 döngü ve 150 µl (15 test) vial karşıt boya için 15 döngü. Işığa maruz kalma en aza indirilmeli ve mümkün oldukça önlenmelidir. Bileşenleri, verilen ışık geçirmez kaptan muhafaza edin. Etiketle belirtilenler dışındaki koşullarda kullanılan ve muhafaza edilen bileşenler, gerektiği gibi çalışmayabilir ve test sonuçlarını olumsuz etkileyebilir. Işığa ve sıcaklık değişimlerine maruz kalınmasının önüne geçmek için her türlü çaba sarf edilmelidir.

Gerekli Olan Fakat Tedarik Edilmeyen Teçhizat ve Materyaller

Kalibre edilmiş teçhizat kullanılmalıdır:

- Isıtmalı tabla (sert bir tabla ve 80 °C'ye kadar doğru sıcaklık kontrolü)
- Kalibre edilmiş değişken hacimli mikropipet ve uç aralığı 1 µl-200 µl
- Doğru sıcaklık kontrolünde (37 °C ve 72 °C) su banyosu
- Mikrosantrifüj tüpler (0,5 ml)
- Floresan mikroskop (Lütfen Floresan Mikroskop Önerisi bölümüne bakınız)
- Faz kontrast mikroskobu
- Temiz plastik, seramik ya da ısıya dayanıklı cam Coplin kavanozlar
- Forseps
- Kalibre edilmiş pH ölçüm cihazı (ya da pH 6,5-8,0 ölçebilen pH indikatör şeritler)
- Nemli kap
- Floresan dereceli mikroskop lensi immersiyon yağı
- Tezgah üstü santrifüj
- Mikroskop lamaları
- 24x24 mm lameller
- Zamanlayıcı
- 37 °C inkübatör
- Kauçuk çözelti yapıştırıcısı
- Vorteks mikser
- Dereceli silindirler
- Manyetik karıştırıcı
- Kalibre edilmiş termometre

Tedarik Edilmeyen Tercihe Bağlı Teçhizat

- Sitogenetik kurutma kabini

Gerekli Olan Fakat Tedarik Edilmeyen Reaktifler

- 20x salin-sodyum sitrat (SSC) Çözeltilisi
- %100 Etanol
- Tween-20
- 1 M Sodyum hidroksit (NaOH)
- 1 M Hidroklorik asit (HCl)
- Arıtılmış su

Floresan Mikroskop Önerisi

Optimal vizüalizasyon için, 100 vat cıva buharlı lamba ya da muadili bir lamba ve yağ immersiyonu planı apokromat objektiflerini (60/63x ya da 100x) kullanın. Bu prob setinde kullanılan florofor şu dalga boylarını eksite eder ve yayar:

Florofor	Eksitasyonmaks. [nm]	Emisyonmaks. [nm]
Açık Mavi	418	467
Yeşil	495	521
Kırmızı	596	615

Mikroskoba yukarıda listelenen dalga boylarını kapsayan uygun eksitasyon ve emisyon filtrelerinin takıldığından emin olun.

Açık mavi spektrumun en iyi şekilde görüntülenebilmesi için tekli açık mavi spektrum bant geçirici filtre ya da yeşil, kırmızı ve açık mavi floroforların eş zamanlı görüntülenmesi için üçlü kırmızı spektrum/yeşil spektrum/açık mavi spektrum bant geçirici filtre kullanın.

Doğru şekilde çalıştığından emin olmak için, floresan mikroskobu kullanmadan önce kontrol edin. Floresan mikroskopisine uygun ve düşük otomatik floresan için formüle edilmiş immersiyon yağı kullanın. DAPI renk solması önleyici karışımı

mikroskop immersiyon yağıyla karıştırmaktan kaçının. Bu, sinyalleri bozacaktır. Lamba ömrü ve filtrelerin yaşıyla ilgili olarak üreticilerin önerilerine riayet edin.

Numune Hazırlama

Bu kit, laboratuvar ya da kurumsal kılavuzlara göre hazırlanmış olan, Carnoy çözeltisi (3:1 metanol/asetik asit) içinde sabitlenmiş, hematolojik olarak türetilmiş hücre süspansiyonlarında kullanılmak üzere tasarlanmıştır. Havaıyla kurutulmuş numuneleri mikroskop lamaları üzerinde standart sitogenetik prosedürlere uygun şekilde hazırlayın. AGT *Sitogenetik Laboratuvar Kılavuzu* numune toplama, kültürleme, hasat ve lam yapımı için öneriler içermektedir⁴.

Çözelti Hazırlama

Etanol Çözeltileri

Takip eden oranları kullanarak %100 etanolü artılmış su ile seyreltin ve iyice karıştırın:

- %70 Etanol-7 birim %100 etanol ve 3 birim artılmış su
- %85 Etanol-8,5 birim %100 etanol ve 1,5 birim artılmış su

Çözeltileri hava geçirmez bir kaptan, 6 aya kadar, oda sıcaklığında muhafaza edin.

2xSSC Çözeltilisi

1 birim 20xSSC Çözeltiliyi 9 birim artılmış suyla seyreltin ve iyice karıştırın. pH'ı kontrol edin ve NaOH ya da HCl kullanarak pH 7,0 olarak ayarlayın. Çözeltiliyi oda sıcaklığında, hava geçirmez bir kaptan, 4 haftaya kadar muhafaza edin.

0,4xSSC Çözeltilisi

1 birim 20xSSC Çözeltiliyi 49 birim artılmış suyla seyreltin ve iyice karıştırın. pH'ı kontrol edin ve NaOH ya da HCl kullanarak pH 7,0 olarak ayarlayın. Çözeltiliyi oda sıcaklığında, hava geçirmez bir kaptan, 4 haftaya kadar muhafaza edin.

2xSSC, %0,05 Tween-20 Çözeltilisi

1 birim 20xSSC Çözeltiliyi 9 birim artılmış suyla seyreltin. Her 10 ml başına 5 µl Tween-20 ekleyin ve iyice karıştırın. pH'ı kontrol edin ve NaOH ya da HCl kullanarak pH 7,0 olarak ayarlayın. Çözeltiliyi oda sıcaklığında, hava geçirmez bir kaptan, 4 haftaya kadar muhafaza edin.

FISH Protokolü

(Not: Probu ve karşıt boyanın laboratuvar ışıklarına maruz kalmamasına her zaman dikkat edin).

Lam Hazırlama

- Hücre numunesini cam mikroskop lamı üzerine yerleştirin. Kurumaya izin verin. (**Tercihe bağlı, sitogenetik kurutma kabini kullanılıyorsa:** Optimal hücre numunesi damlatma için, kabin yaklaşık 25 °C'de ve %50 nemde işletilmelidir. Bir sitogenetik kurutma kabini mevcut değilse alternatif olarak bir davlumbaz kullanın).
- Lamı 2 dakika boyunca, oda sıcaklığında ve ajitasyon olmadan 2xSSC içine daldırın.
- Bir etanol serisinde (%70, %85 ve %100), 2 dakika boyunca, oda sıcaklığında dehidrasyon yapın.
- Kurumaya izin verin.

Ön Denatürasyon

- Probu dondurucudan çıkarın ve oda sıcaklığında ısınmasını sağlayın. Kullanmadan önce, tüpleri kısa süre santrifüj edin.
- Prob çözeltisinin bir pipetle karıştırıldığından ve çözeltinin eşit olarak dağıldığından emin olun.
- Test başına probdan 10 µl alın ve bir mikrosantrifüj tüpüne aktarın. Kalan probu vakit kaybetmeden dondurucuya geri koyun.
- 5 dakikalık ön ısıtma için, probu ve numune lamını 37 °C (+/- 1 °C) ısıtmalı tabla üzerine koyun.
- Prob karışımından 10 µl alıp hücre numunesi üzerine damlatın ve dikkatlice bir lamel uygulayın. Kauçuk çözelti yapıştırıcısıyla kapatın ve yapıştırıcının tamamen kurumasına izin verin.

Denatürasyon

- Lamı ısıtmalı tabla üzerinde 75 °C'de (+/- 1 °C), 2 dakika ısıtarak numuneyi ve probu eş zamanlı olarak denatüre edin.

Hibridizasyon

- Lamı nemli, ışık geçirmez bir kap içinde, 37 °C'de (+/- 1 °C) bir gece bekletin.

Hibridizasyon Sonrası Yıkamalar

- DAPI'yi dondurucudan çıkarın ve oda sıcaklığında ısınmasını sağlayın.
- Lameli ve yapıştırıcının tüm izlerini dikkatlice kaldırın.
- Lamı 2 dakika boyunca, 72 °C'de (+/- 1 °C) ve ajitasyon olmadan 0,4xSSC (pH 7,0) içine daldırın.
- Lamı kurutun ve 30 saniye boyunca, oda sıcaklığında (pH 7,0) ve ajitasyon olmadan 2xSSC, %0,05 Tween-20 içine daldırın.
- Lamı kurutun ve her bir numuneye 10 µl DAPI renk solması önleyici karışımı uygulayın.
- Bir lamel ile üstünü kapatın, baloncukları giderin ve 10 dakika boyunca karanlıkta bekleterek rengin belirginleşmesini sağlayın.
- Floresan mikroskop kullanarak izleyin (bakınız **Floresan Mikroskop Önerisi**).

Prosedürel Öneriler

- Lamaların ısıtılması ya da yıpranması, sinyal floresanını düşürebilir.
- Cytocell Ltd.'nin tedarik ettiği ya da önerdiği reaktifler haricinde reaktifler kullanmak, hibridizasyon koşullarını olumsuz etkileyebilir.
- Bu sıcaklıklar optimum ürün performansı açısından kritik olduğu için, çözelti, su banyosu ve inkübatör sıcaklıklarını ölçmek için kalibre edilmiş bir termometre kullanın.

4. Düşük sertlik probun belirsiz bağlanmasıyla ve çok yüksek sertlik sinyali yokluğuyla sonuçlanabileceği için, yıkama konsantrasyonları, pH ve sıcaklıklar önemlidir.
5. Tamamlanmamış denatürasyon sinyali yokluğuna, aşırı denatürasyon ise belirsiz bağlanmaya neden olabilir.
6. Aşırı hibridizasyon ilave ya da beklenmeyen sinyallerin ortaya çıkmasıyla sonuçlanabilir.
7. Kullanıcılar, testi tanılama amaçlı olarak kullanmadan önce, protokolü kendi numunelerine göre optimize etmelidirler.
8. Optimal altı koşullar, belirsiz bağlanmanın yanlış şekilde prob sinyali olarak yorumlanmasına neden olabilir.

Sonuçların Yorumlanması

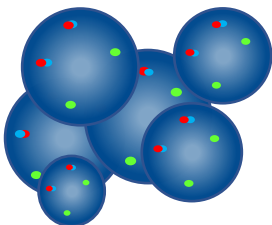
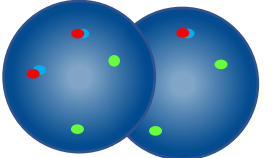
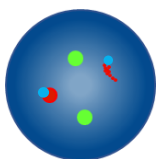
Lam Kalitesinin Değerlendirilmesi

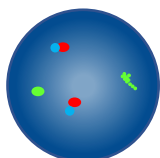
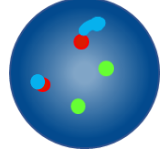
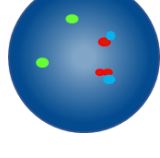
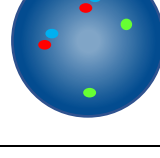
Aşağıdaki durumlarda lam analiz edilmemelidir:

- Sinyaller, tekli filtrelerle analiz yapmak için çok zayıfsa - analize devam etmek için, sinyaller parlak, ayırt edilebilir ve kolay değerlendirilebilir olmalıdır
- Analize engel olan, çok sayıda kümelenmiş/üst üste binmiş hücre varsa
- Hücrelerin >50'si melezleştirilmemişse
- Hücreler arasında fazla floresan partikül ve/veya sinyalleri bozan bir floresan bulanıklığı varsa - optimal lamlarda arka plan koyu ya da siyah ve temiz görünmelidir
- Hücre çekirdekleri arasında sınırlar ayırt edilemiyorsa ve intakt değilse

Analiz Kılavuzları

- Her numuneyi iki analist analiz etmeli ve yorumlamalıdır. Herhangi bir tutarsızlık üçüncü bir analist tarafından değerlendirilerek çözümlenmelidir
- Analistlerin hepsi geçerli ulusal standartların öngördüğü vasıflara sahip olmalıdır
- Her analist, her numune için bağımsız olarak 100 çekirdek almalıdır. Birinci analist lamine sol tarafından, ikinci analist lamine sağ tarafından analize başlamalıdır
- Her bir analist elde ettiği sonuçları ayrı tablolara kaydetmelidir
- Yalnızca intakt çekirdekleri analiz edin. Üst üste binmiş, kümelenmiş ya da sitoplazmik kalıntılarla veya yüksek derece otofloresanla kaplı çekirdekleri analiz etmeyin
- Çok fazla sitoplazmik kalıntı ya da belirsiz hibridizasyon olan alanlardan kaçının
- Sinyal yoğunluğu, tek bir çekirdekte bile değişebilir. Bu durumlarda, tekli filtreler kullanın ve/veya odak düzlemini ayarlayın
- Sinyaller optimal altı koşullarda dağınık olarak görünebilir. Eğer aynı rengin iki sinyali birbirine değiyorsa ya da bu iki sinyalin arasındaki uzaklık iki sinyal genişliğinden daha büyük değilse veya bu iki sinyali birbirine bağlayan zayıf bir zincir varsa, bu iki sinyali tek olarak sayın
- Hücresinin analiz edilebilir olup olmadığından emin değilseniz, analiz yapmayın

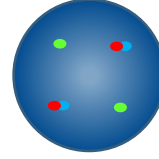
Analiz Kılavuzları	
	Saymayın - çekirdeklerin sınırları belirlenemeyecek kadar birbirine çok yakın
	Üst üste binmiş çekirdekleri saymayın - her iki çekirdeğin tüm alanları görünmez
	İki kırmızı/açık mavi füzyon sinyali ve iki yeşil sinyal olarak sayın - iki kırmızı sinyalden biri dağınıktır

	İki kırmızı/açık mavi füzyon sinyali ve iki yeşil sinyal olarak sayın - iki yeşil sinyalden biri dağınıktır
	İki kırmızı/açık mavi füzyon sinyali ve iki yeşil sinyal olarak sayın - iki açık mavi sinyalden biri dağınıktır
	İki kırmızı/açık mavi füzyon sinyali ve iki yeşil sinyal olarak sayın - bir kırmızı sinyaldeki boşluk iki prob genişliğinden azdır
	İki kırmızı/açık mavi füzyon sinyali ve iki yeşil sinyal olarak sayın - kırmızı ve açık mavi sinyali arasındaki boşluk iki prob genişliğinden azdır

Beklenen Sonuçlar

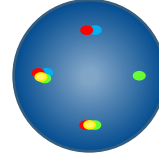
Beklenen Normal Sinyal Örüntüsü

Üç Renkli Dual Fusion Probe

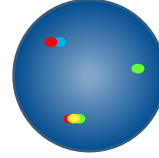


Normal bir hücrede, iki kırmızı/açık mavi füzyon ve iki yeşil sinyal beklenir (2KAM2Y).

Beklenen Anormal Sinyal Örüntüsü



T(9;22)(q34.1;q11.2) yeniden düzenlenmeli bir hücrede, bir kırmızı/açık mavi füzyon, bir yeşil sinyal, bir kırmızı/yeşil füzyon, bir kırmızı/yeşil/açık mavi füzyon (1KAM1Y1KY1KYAM) sinyali beklenir.



Proksimal 9q ve distal 22q silinmesiyle t(9;22)(q34.1;q11.2) yeniden düzenlenmeli bir hücrede, bir kırmızı/açık mavi füzyon, bir yeşil sinyal ve bir kırmızı/yeşil füzyon (1KAM1Y1KY) sinyali beklenir.

Anöploid/dengesiz numunelerde diğer sinyal örüntüleri mümkündür.

Bilinen İlgili Etkileşimler/Etkileşen Maddeler

Bilinen ilgili etkileşim/etkileşen madde yok.

Bilinen Çapraz Reaktivite

Yeşil BCR distal probu, 7q11.2'de kromozom 7'de en fazla 2 sinyal gösterebilir.

Olumsuz Durum Raporlama

Avrupa Birliği ve benzer düzenleyici rejimin (*In vitro* Tıbbi Tanılama Cihazları hakkında (EU) 2017/746 Yönetmeliği) olduğu ülkelerde bulunan hastalar/kullanıcılar/üçüncü taraflar için; bu cihazın kullanımı sırasında ya da sonucunda olumsuz bir durum meydana gelirse, lütfen bunu Üreticiye ve Yetkili Ulusal Makama rapor edin.

Diğer ülkelerdeki olumsuz durumlar için, lütfen bunu Üreticiye ve varsa, Yetkili Ulusal Makama rapor edin.

Üretici vijilans irtibatı: vigilance@ogt.com

AB Yetkili Ulusal Makamları için, vijilans irtibat noktalarının bir listesini şurada bulabilirsiniz:

https://health.ec.europa.eu/medical-devices-sector/new-regulations/contacts_en

Spesifik Performans Özellikleri

Analitik Belirlilik

Analitik belirlilik, doğru lokusa melezleştirilmiş ve başka bir konuma melezleştirilmemiş sinyallerin yüzdesi olarak tanımlanır. Beş (5) numunede bulunan 100 metafaz hücresinin her birinde üç (3) kromozomal lokus analiz edildi ve 600 veri noktası elde edildi. Her melezleştirilmiş probun konumu haritalandı ve doğru lokusa melezleştirilmiş metafaz kromozomundaki FISH sinyallerinin sayısı kaydedildi.

Kit içerisindeki her probun analitik belirliliği, doğru lokusa melezleştirilmiş metafaz kromozomundaki FISH sinyallerinin toplam sayısının melezleştirilmiş metafaz kromozomundaki FISH sinyali sayısına bölünmesiyle hesaplandı, bulunan sonuç 100 ile çarpıldı, yüzde olarak ifade edildi ve %95 güven aralığında verildi.

Tablo 1. BCR/ABL (ABL1) Plus Translocation, Dual Fusion Probe için Analitik Belirlilik

Hedef	Melezleştirilmiş metafaz kromozomlarının sayısı	Doğru melezleştirilmiş lokus sayısı	Analitik Belirlilik	%95 Güven Aralığı
9q34.1	200	200	%100	%98,12-%100
22q11.2	200	200	%100	%98,12-%100
9q34.1	200	200	%100	%98,12-%100

Analitik Hassasiyet

Analitik hassasiyet, beklenen normal sinyal örüntüsü olan, skorlanabilir interfaz hücrelerinin yüzdesidir. Bir BCR::ABL1 translokasyonu ve ASS1 silinmesi için negatif olan, kemik iliğinden 25 sabitlenmiş hücre süspansiyonunun her biri için en az 100 interfaz hücresi analiz edildi ve bunun sonucunda her numune tipi için minimum 2500 puanlanan çekirdek elde edildi. Hassasiyet verileri, beklenen normal sinyal örüntüsü gösteren hücrelerin yüzdesine dayanarak analiz edildi ve %95 güven aralığında bir yüzde olarak ifade edildi.

Tablo 2. BCR/ABL (ABL1) Plus Translocation, Dual Fusion Probe için Analitik Hassasiyet

Numune Tipi	Hassasiyet Kriterleri	Hassasiyet Sonucu
Kemik iliği	>%95	%100,0 (± Uygulanamaz)

Normal Eşik Değerleri Karakterizasyonu

Normal eşik değeri, bir bireyin normal olarak kabul edilebileceği ve klinik bir tanı ile tutarlı olmadığı yanlış bir pozitif sinyal örüntüsü gösteren hücrelerin yüzdesi olarak tanımlanır. Bir BCR::ABL1 translokasyonu için negatif olan, kemik iliğinden 25 sabitlenmiş hücre süspansiyonunun her biri için en az 100 interfaz çekirdek analiz edildi ve bunun sonucunda her numune tipi için minimum 2500 puanlanan çekirdek elde edildi.

Eşik değeri, MS Excel'deki β -ters (BETAINV) fonksiyonu kullanılarak belirlendi. Normal bir hasta numunesindeki binom dağılımının tek taraflı %95 güven aralığının bir üst sınırını kullanarak yanlış pozitif sinyal örüntüsü gösteren interfaz hücrelerinin yüzdesi olarak hesaplandı.

Tablo 3. BCR/ABL (ABL1) Plus Translocation, Dual Fusion Probe için Normal Eşik Değerleri Karakterizasyonu

Numune Tipi	Sinyal Örüntüsü	Eşik Değeri Sonuçları
Kemik iliği	1KAM1Y1KY	%2,95
	1KAM1Y1KY1KYAM	%2,95

Laboratuvarlar eşik değerlerini kendi verilerini kullanarak teyit etmelidir^{5,6}.

Kesinlik

Bu ürünün kesinliği gün içi kesinlik (numuneden numuneye), günler arası kesinlik (günden güne) ve tek bölge lotları arası kesinlik (lotta lota) cinsinden ölçüldü.

Bu ürünün kesinliğini değerlendirmek için üç numune kullanıldı: Cytocell sabitlenmiş hücre numunesi bankasından alınan kimliği gizlenmiş kemik iliği numunelerinden kalıntı 3:1 metanol/asetik asit sabitlenmiş materyal. Numune boyutu, beklenen normal ve düşük pozitif aralığı kapsayarak üçtür (3).

Gün içi ve günler arası kesinliği belirlemek için numuneler, ardışık olmayacak şekilde belirlenmiş on (10) farklı tarih boyunca değerlendirildi ve lottan lota kesinliği belirlemek için, aynı numunelerin üç (3) kopyası üzerinde üç (3) ürün lotu değerlendirildi. Sonuçlar, öngörülen negatif sınıfla olan genel uyum olarak sunuldu (negatif numuneler için).

Tablo 4. BCR/ABL (ABL1) Plus Translocation, Dual Fusion Probe için Yeniden Üretilebilirlik ve Kesinlik

Değişken	Numune tipi	Uyum
Gün içi (numuneden numuneye) ve günler arası (günden güne) yeniden üretilebilirlik	Kemik iliği negatif	%96,7
	Kemik iliği düşük pozitif 1KAM1Y1KY	%96,7
	Kemik iliği düşük pozitif 1KAM1Y1KY1KYAM	%83,3
Lotta lota yeniden üretilebilirlik	Kemik iliği negatif	%100,0
	Kemik iliği düşük pozitif 1KAM1Y1KY	%100,0
	Kemik iliği düşük pozitif 1KAM1Y1KY1KYAM	%77,8

Klinik Performans

Ürünün amaçlanan yeniden düzenlemeleri tespit etmesini sağlamak amacıyla, ürün için amaçlanan popülasyonun temsili numuneleri üzerinde yapılan iki çalışmada klinik performans sağlandı: Laboratuvar ya da kurumsal kılavuzlara göre hazırlanmış olan, doğrulanmış veya şüpheli kronik miyeloid lösemi (KML), akut miyeloid lösemi (AML) veya akut lenfoblastik lösemi (ALL) hastalardan alınan, Carnoy çözeltisi (3:1 metanol/asetik asit) içinde sabitlenmiş, hematolojik olarak türetilmiş hücre süspansiyonları. Çalışmalar 99 BCR::ABL translokasyonu negatif ve 26 BCR::ABL translokasyonu pozitif numuneden oluşan 125 numunelik bir toplam numune boyutuna sahiptir. Sonuçlar daha sonra numunenin bilinen durumuyla karşılaştırıldı. Prob, her durumda numunelerin durumunu doğru bir şekilde tanımladı.

Bu testlerin sonuçları, tek boyutlu bir yaklaşım kullanarak pozitif sinyaller için klinik hassasiyet, klinik belirlilik ve yanlış pozitif oran (FPR) değerleri sağlamak amacıyla analiz edildi.

Tablo 5. BCR/ABL (ABL1) Plus Translocation, Dual Fusion Probe için Klinik Performans

Değişken	Sonuç
Klinik Hassasiyet (gerçek pozitif oran, TPR)	%98,97
Klinik Belirlilik (gerçek negatif oran, TNR)	%99,73
Yanlış Pozitif oran (FPR) = 1 – Belirlilik	%0,27

Güvenlilik ve Performans Kısa Özeti (SSP)

SSP, Temel UDI-DI'ye bağlı olduğu tıbbi cihazlar hakkında Avrupa veritabanı (Eudamed) yoluyla halka açık olacaktır.

Eudamed URL'si: <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>

Temel UDI-DI: 50558449LPH038JQ

Eudamed tam olarak çalışmıyorsa SSP@ogt.com adresine e-posta göndererek talep edilmesi üzerine SSP halka açık olacaktır.

Ek Bilgiler

Ürüne ilgili daha fazla bilgi almak için lütfen CytoCell Teknik Destek Bölümü ile iletişime geçin.

Tel.: +44 (0)1223 294048

E-posta: techsupport@cytocell.com

Web sitesi: www.ogt.com

Referanslar

- WHO Classification of Tumours Editorial Board. Haematolymphoid tumours [Internet; beta version ahead of print]. Lyon (France): International Agency for Research on Cancer; 2022 [cited 2023 March 29]. (WHO classification of tumours series, 5th ed.; vol. 11). Available from: <https://tumourclassification.iarc.who.int/chapters/63>
- Soupir et al., Am J Clin Pathol 2007;127:642-650
- Robinson et al., Leukemia 2005;19(4):564-71
- Arsham, MS., Barch, MJ. and Lawce HJ. (eds.) (2017) *The AGT Cytogenetics Laboratory Manual*. New Jersey: John Wiley & Sons Inc.
- Mascarello JT, Hirsch B, Kearney HM, et al. Section E9 of the American College of Medical Genetics technical standards and guidelines: fluorescence in situ hybridization. Genet Med. 2011;13(7):667-675.
- Wiktor AE, Dyke DLV, Stupca PJ, Ketterling RP, Thorland EC, Shearer BM, Fink SR, Stockero KJ, Majorowicz JR, Dewald GW. *Preclinical validation of fluorescence in situ hybridization assays for clinical practice*. Genetics in Medicine. 2006;8(1):16-23.

Semboller Sözlüğü

EN ISO 15223-1:2021 - "Tıbbi cihazlar - Üretici tarafından sağlanacak bilgilerde kullanılacak semboller - Bölüm 1: Genel gereklilikler" (© International Organization for Standardization)		
Sembol	Başlık	Referans Numarası/Numaraları
	tr: Üretici	5.1.1
	tr: Avrupa Topluluğu'nda/Avrupa Birliği'nde yetkili temsilci	5.1.2
	tr: Son kullanım tarihi	5.1.4
	tr: Parti kodu	5.1.5
	tr: Katalog numarası	5.1.6
	tr: Güneş ışığından koruyun	5.3.2
	tr: Sıcaklık sınırı	5.3.7
	tr: Kullanım talimatlarına bakın	5.4.3
 oqt.com/IFU	tr: Elektronik kullanım talimatlarına bakın	5.4.3
	tr: Dikkat	5.4.4
	tr: <i>In vitro</i> tıbbi tanılama cihazı	5.5.1
	tr: <n> test için yeterlidir	5.5.5
	tr: Benzersiz Cihaz Tanımlayıcısı	5.7.10
IVD reaktifleri ve bileşenleri için EDMA sembolleri, Ekim 2009 revizyonu		
Sembol	Başlık	Referans Numarası/Numaraları
	tr: İçindekiler (veya içerikler)	Uygulanamaz

Patentler ve Markalar

CytoCell, CytoCell Limited'in tescilli ticari markasıdır.



CytoCell Limited
Oxford Gene Technology
418 Cambridge Science Park
Milton Road
CAMBRIDGE
CB4 0PZ
BİRLEŞİK KRALLIK

Tel.: +44 (0)1223 294048
Faks: +44 (0)1223 294986
E-posta: probes@cytoCell.com
Web sitesi: www.oqt.com



Sysmex Europe SE
Bornbarch 1
22848 Norderstedt
ALMANYA

Tel.: +49 40 527260
Web sitesi: www.sysmex-europe.com

IFU Sürüm Geçmişi

V001 2023-06-13: (EU) 2017/746 Yönetmeliği için yeni IFU
V002 2025-08-29: UKCA işaretinin kaldırılması.